

Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
der Universität Erlangen - Nürnberg  
Direktor: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

---

# Untersuchungen über die Vererbbarkeit der menschlichen Serum - Paraoxonase

## Inaugural - Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde  
des Hohen Fachbereichs Medizin  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von  
Rainer Johannes Rudolf Schmitt  
aus Nürnberg







Aus dem Institut für Rechtsmedizin  
der Universität Erlangen - Nürnberg  
Direktor: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

---

# Untersuchungen über die Vererbbarkeit der menschlichen Serum-Paraoxonase

**Inaugural - Dissertation**  
zur Erlangung der Doktorwürde  
des Hohen Fachbereichs Medizin  
der Friedrich-Alexander-Universität  
Erlangen-Nürnberg

vorgelegt von  
**Rainer Johannes Rudolf Schmitt**  
aus Nürnberg

Gedruckt mit Erlaubnis des Fachbereichs Medizin der  
Universität Erlangen-Nürnberg



komm. Dekan: Prof. Dr. E. Rügheimer

Referent: Prof. Dr. Dr. M. Geldmacher von Mallinckrodt

Korreferent: Prof. Dr. H.-B. Wuermeling

Tag der mündlichen Prüfung: 13. Januar 1975

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG

- 1. Das Thema der Abhandlung ..... 1
- 2. Zweck der Untersuchung, ihre Stellung innerhalb der Geom.-Chemie ..... 2
- 3. Aufbau der Arbeit ..... 3

B. THEORETISCHE GRUNDLAGEN  
**Meiner Familie gewidmet**

- 1. Bedeutung der Geom.-Chemie ..... 4
- 2. Methoden der Geom.-Chemie ..... 5
- 3. Aufgaben der Geom.-Chemie ..... 6
- 4. Bedeutung der Geom.-Chemie ..... 7
- 5. Bedeutung der Geom.-Chemie ..... 8
- 6. Bedeutung der Geom.-Chemie ..... 9

C. EXPERIMENTELLE ARBEIT

D. ZUSAMMENFASSUNG



## INHALTSVERZEICHNIS

### A. EINLEITUNG

1. Das Wesen der Alkylphosphate S. 2
2. Deutung der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E-600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat S. 4
3. Reaktionsunterschiede der Serum-Cholinesterase mit Acetylcholin und mit Butyrylcholin S. 7

### B. PROBLEMSTELLUNG S. 8

### C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN S.10

1. Messung der Serum-Paraoxonase-Aktivität mit Butyrylcholinjodid in der Warburg-Apparatur
  - a) Versuchsvorbereitung S.10
  - b) Inkubation mit E-600 S.10
  - c) Messung der Cholinesteraseaktivität S.11
  - d) Berechnung der Restaktivität S.13
2. Versuchsergebnis S.14

### D. ZUSAMMENFASSUNG S.20

### E. LITERATURVERZEICHNIS S.24

## A. Einleitung

### 1. Wesen der Alkylphosphate

Alkylphosphate spielen in der Toxikologie und der Kriminalistik eine große Rolle, da sie sehr häufig in suizidaler Absicht Verwendung finden. Sie besitzen eine sehr labile Phosphorbindung, so daß sich dieser Phosphor unter Aufgabe dieser Bindung mit dem esteratischen Zentrum der Acetylcholinesterase verbindet. Acetylcholin kann den Hemmstoff vom Enzym nicht verdrängen. Daher kann man die Alkylphosphate als nicht kompetitive Hemmstoffe der Acetylcholinesterase bezeichnen. E 605 (O,O-Diäthyl-O-p-nitrophenylthiophosphat) stellt wohl einen der bekanntesten Vertreter dieser als Pflanzenschutzmittel verwendeten Phosphorsäureester dar. Im Organismus wird der zweiwertige Schwefel der Verbindung durch ein Atom Sauerstoff ersetzt. Erst dadurch wird aus E 605 die eigentlich giftige Substanz E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat).

Ein Maß für die Toxizität von Alkylphosphaten stellt die molare Konzentration an Wirkstoff dar, die in der Lage ist, die Aktivität der Cholinesterase auf die Hälfte zu erniedrigen ( $I_{50}$ ). Dieser Wert ist von der Art der Cholinesterase und von den Versuchsbedingungen abhängig. Für E 600 und verschiedene Serumcholinesterasen sind in der Literatur Werte wie in Tabelle 1 genannt. (Zusammenstellung nach Geldmacher-v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf).

Tabelle 1

I<sub>50</sub>-Werte für Serum-Cholinesterasen verschiedener Herkunft

| Herkunft<br>des Serums | I <sub>50</sub>          | Autor                                |
|------------------------|--------------------------|--------------------------------------|
| ?                      | $1,4 \times 10^{-7}$     | Schrader (1963)                      |
| Pferd                  | $1,4 \times 10^{-7}$     | Heath (1961)                         |
| Ratte                  | $2,63 \times 10^{-8}$    | Heath (1961)                         |
| ?                      | $1,26 \times 10^{-7}$    | Heath (1961)                         |
| Mensch                 | $0,87 \times 10^{-8}$    | Rosival u. Mitarb. (1959)            |
| Mensch                 | $1,6-2,6 \times 10^{-8}$ | Geldmacher-v.M.<br>u. Mitarb. (1969) |

Bei der Inkubation von Serum-Cholinesterasen von 75 menschlichen Seren mit E 600 in  $3,2 \times 10^{-8}$  molarer Konzentration konnten Geldmacher-v.Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) sowie Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) verschiedene Vergiftungsgrade des Fermentes durch den Hemmstoff feststellen. Unabhängig von der Ausgangsaktivität fanden sie drei Gruppen mit niedriger, mittlerer und hoher Restaktivität.

| Gruppe | Anzahl d. Personen | Restaktivität in %<br>d. Normalaktivität |
|--------|--------------------|------------------------------------------|
| I      | 38                 | 0-5,5 niedrig                            |
| II     | 22                 | 13-21 mittel                             |
| III    | 15                 | 29-51 hoch                               |

2. Deutung der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat

Bei der Deutung des Problems der unterschiedlichen Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen kann man auf zweierlei Theorien stoßen.

1. Es könnte sich um einen Polymorphismus der Serum-Cholinesterasen handeln.
2. Das E 600 könnte durch im Serum vorkommende Fermente unterschiedlicher Aktivität gespalten werden und so die unterschiedliche Hemmung der Cholinesterase im Serum erklärt werden.

Ad 1. Bei den menschlichen Serum-Cholinesterasen ist schon mehrfach vor und nach Inkubation mit bestimmten Hemmstoffen eine Zuordnung zu gut definierten Typen erfolgt.  
(Goedde und Mitarbeiter)

Ad 2. Aldrige fand 1953 bei untersuchten Serumesterasen von Ratte und Pferd zwei Arten von Esterasen, die sich in ihrer Hemmbarkeit durch E 600 unterschieden. So war die Esterase A gegenüber E 600 unempfindlich, während die Esterase B durch E 600 in einer Konzentration von  $10^{-7}$  bis  $10^{-8}$  gehemmt wurde.

Wenig später fand Aldrige ein E 600-spaltendes Enzym im Serum von Kaninchen, Ratte und Pferd, das, wie sich herausstellte, mit der A-Esterase identisch war.

Augustinson und Heimbürger (1954) berichteten über ein organische Phosphorverbindungen hydrolysierendes Ferment bei 7 verschiedenen Tierarten und beim Menschen, das sie "Phosphorylphosphatase" nannten.

Friedberg und Erdmann (1959) beobachteten, daß E 600 im Serum von Rindern und Pferden sehr schnell zerstört wird. Als Ursache hierfür nahmen sie ebenfalls eine Spaltung durch eine "Phosphorylphosphatase" an.

1968 konnten Skrinjarik-Spoljar und Reiner, sowie Krisch unabhängig voneinander nachweisen, daß E 600 auch durch menschliches Serum gespalten werden kann, wobei die Konzentration von E 600 weit über der für die völlige Vergiftung der Serum-Cholinesterase nötigen Mindestmenge lag. Krisch untersuchte dann Seren von je 25 Frauen und Männern mit einer E 600-spaltenden Aktivität entsprechend 38 bis 190 uMol/Minute und Liter Serum. Er konnte dabei zwei Gruppen erkennen, die sich durch die Höhe der Esteraseaktivität unterschieden.

Um dieses Problem weiter abzuklären, untersuchten Geldmacher- v. Mallinckrodt, Baumgartner, Petenyi, Burgis, Lindorf und Metzner bei 50 Probanden mit niedriger, mittlerer und hoher Cholinesterase-Restaktivität nach ihrer Versuchsanordnung (Anti-ChE-Technik mit  $3,2 \times 10^{-8}$  molarem E 600) parallel die Aktivität des E 600-spaltenden Prinzips im Serum mit der Methode nach Krisch (1968). Dabei ergab sich die Identität der Personen mit niederer Aktivität bei beiden Verfahren, die sowohl nach dem eigenen Verfahren als auch nach Krisch etwa 50 % des untersuchten Personenkreises ausmachten. Für alle untersuchten Personen betrug der Korrelationskoeffizient 0,82.

Sie schlossen daraus, daß die gefundenen Reaktionen nicht mit einem Polymorphismus der Serum-Cholinesterasen erklärt werden können, sondern daß dafür das E 600-spaltende Enzym des menschlichen Serums verantwortlich ist.

Sie nannten diese E 600-spaltende Aktivität, die von anderen Autoren z.B. A-Esterase oder Phosphorylphosphatase bezeichnet wurde, Paraoxonase.

Durch die gewonnenen Erkenntnisse konnte die früher festgelegte Gruppeneinteilung in neuer Form abgeändert werden.

Dabei entspricht eine hohe Paraoxonase-Aktivität einer hohen Cholinesterase-Restaktivität.

Tabelle 2 zeigt die sich entsprechenden Gruppierungen nach Geldmacher- v.Mallinckrodt, Lindorf, Petenyi, Flügel, Fischer und Hiller, wobei bereits an eine genetische Ursache der unterschiedlichen Restaktivitäten gedacht wird:

T A B E L L E 2

| Gemessene<br>Cholinesterase<br>Restaktivität | entsprechende<br>Paraoxonase<br>Aktivität | bisherige<br>Bezeichnung | neue<br>Bezeichnung |
|----------------------------------------------|-------------------------------------------|--------------------------|---------------------|
| n i e d r i g                                | n i e d r i g                             | G r u p p e<br>I         | 1 - 1               |
| m i t t e l                                  | m i t t e l                               | G r u p p e<br>II        | 2 - 1               |
| h o c h                                      | h o c h                                   | G r u p p e<br>III       | 2 - 2               |

Sich entsprechende Bezeichnungen für die Paraoxonase-Aktivität bzw. Cholinesterase-Restaktivität.

### 3. Reaktionsunterschiede der Serum-Cholinesterase mit Acetylcholin und mit Butyrylcholinjodid

Weil Butyrylcholinjodid durch die Serum-Cholinesterase viel schneller abgebaut wird als Acetylcholin (Wittacker 1968), sind verschiedene Autoren aus diesem Grunde der Meinung, daß das eigentliche physiologische Substrat der Serum-Cholinesterase das Butyrylcholin sei.

Geldmacher- v. Mallinckrodt und Lindorf (1969), sowie F. Obiri (1973) verglichen die Reaktion der Serum-Cholinesterase mit Acetylcholin einerseits und mit Butyrylcholinjodid andererseits in der Warburg-Apparatur.

Bei der Vergiftung der Seren mit E 600 konnte auch jedes Serum, das mit Butyrylcholinjodid als Substrat reagierte, in eine der drei Klassen mit niedriger, mittlerer oder hoher Aktivität eingeordnet werden und zwar in die gleiche Klasse wie mit Acetylcholin als Substrat. Die Restaktivität war zahlenmäßig praktisch identisch.

Da bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat die  $\text{CO}_2$ -Entwicklung pro Zeiteinheit in der Warburg-Apparatur mehr als doppelt so groß ist wie bei Acetylcholin als Substrat, konnte der Meßvorgang auf die Hälfte der Zeit verkürzt werden.

Da außerdem die Erythrozyten-Cholinesterase wohl mit Acetylcholin, nicht aber mit Butyrylcholinjodid reagiert, scheint die Bestimmung der Restaktivität mit Butyrylcholinjodid genauer zu sein.

## B. Problemstellung

Bereits Krisch konnte (siehe S. 5) bei der Untersuchung an Seren von je 25 Männern und Frauen mit E 600 ( $10^{-4}M$ ) zwei verschiedene Gruppen erkennen, die sich durch die Höhe der Paraoxonase-Aktivität unterschieden. Wegen der Überlagerung war es ihm aber nicht möglich, jede Einzelperson einer bestimmten Gruppe zuzuordnen. Er dachte bei dieser Gruppenspezifität an eine genetische Ursache.

Geldmacher- v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf konnten durch Untersuchungen an Seren von 75 Versuchspersonen (siehe S. 3) mit E 600 ( $3,2 \times 10^{-8}M$ ) drei verschiedene Gruppen erkennen, und zwar wiesen 20 % eine hohe, 29,8 % eine mittlere und 50,2 % eine niedere Aktivität auf. Auch sie vermuteten eine genetische Ursache für dieses Ergebnis.

Während jedoch die bimodale Verteilung nach Krisch auf einen dominant-rezessiven Erbgang schließen läßt, deutet die trimodale Verteilung nach Geldmacher- v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf auf ein intermediäres Prinzip der Genetik der E 600-spaltenden Aktivität des menschlichen Serums hin.

Eine dominant-rezessive Vererbung würde bedeuten, daß es hypothetisch ein dominantes Gen für hohe Paraoxonase-Aktivität, das wir mit "H" bezeichnen wollen, und ein rezessives Gen für niedrige EP-Aktivität: "n" gäbe.

Es würden dann zwei Gruppen vorliegen:

- |                                    |               |
|------------------------------------|---------------|
| 1. hohe Paraoxonase-Aktivität:     | a) <u>H n</u> |
|                                    | b) <u>H H</u> |
| 2. niedrige Paraoxonase-Aktivität: | <u>n n</u>    |

Der viel wahrscheinlicheren intermediären Vererbung der Aktivität würden zwei gleichwertige Gene zugrunde liegen:

1. Ein Gen für hohe Paraoxonase-Aktivität: " 2 "

2. Ein Gen für niedrige Paraoxonase-Aktivität: " 1 "

Daraus würden dann die drei bereits erwähnten Gruppen (siehe S. 3) mit hoher, mittlerer und niedriger Aktivität folgen.

Um diese Fragen zu klären, habe ich Untersuchungen an Seren von zehn Familien mit der Warburg-Apparatur unternommen, wobei ich E 600 als Alkylphosphat und Butyrylcholinjodid als Substrat verwendet habe.

### C. Eigene Untersuchungen

1. Messung der Serum-Paraoxonase-Aktivität mit Butyrylcholinjodid als Substrat in der Warburg-Apparatur Typ V85 der Firma Braun, Melsungen, mit der manometrischen Methode von Ammon (1934) in der Modifikation von Friedberg und Sakai (1958), jedoch bei einem pH-Wert von 7,2, über die Cholinesterase-Restaktivität nach Vergiftung mit E 600.

#### a) Versuchsvorbereitung

Den Mitgliedern von zehn miteinander nicht verwandten gesunden Familien (Vater, Mutter, Kinder) wurden mit einer Venüle 10 ml Venenblut abgenommen, das etwa 1 Stunde nach Entnahme 15 Minuten lang bei 1500 U/min zentrifugiert wurde. Dabei zeigte sich bei keinem Serum eine Hämolyse, welche jedoch im Versuch bei Verwendung von Butyrylcholinjodid als Substrat auf Grund der substrat-spezifischen Wirkung der Erythrozyten-Cholinesterase auf Acetylcholinchlorid keinerlei Auswirkung gehabt hätte (Lindorf 1971).

Das gewonnene Serum wurde sofort abgetrennt und bei plus 4°C im Kühlschrank aufbewahrt, jedoch nicht länger als 48 Stunden (bedingt durch apparative und organisatorische Gegebenheiten), was aber auf die Aktivität der zu untersuchenden Stoffe nach Lindorf (1971) keinen Einfluß hat.

Bei der Inkubation mit E 600 wurden die Bedingungen auf die nachfolgende Messung der Aktivität abgestimmt.

#### b) Inkubation mit E 600

Zur Herstellung der Vergiftungslösung wurden 1 µl E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat) auf 90 ml aqua dest.gegeben; man

ließ diese Lösung 5-10 Minuten stehen und gab dann davon 10  $\mu$ l in 13,5 ml Verdünnungslösung. Diese als Verdünnungsflüssigkeit für das Serum verwendete Salzlösung wurde wie folgt hergestellt:

- I) Man löst 2,7 g NaCl in 300 ml aqua dest.
- II) 1,26 g  $\text{NaHCO}_3$  gibt man auf 100 ml aqua dest.

Lösung I) und 90 ml von Lösung II) zusammen ergeben die Verdünnungslösung.

Zur Vergiftung wurden 0,15 ml Serum mit 1,35 ml der E 600-haltigen Verdünnungslösung versetzt. Die E 600-Konzentration im Inkubationsansatz war  $3,2 \text{ mal } 10^{-8}$  molar.

Die Inkubationszeit betrug genau 1 Stunde bei  $37^\circ\text{C}$ . In den Reaktionsraum der Warburggefäße wurden hierzu 1,5 ml der Butyrylcholinjodidlösung gebracht, in die Anhangsbirne 0,5 ml des inkubierten Serums. Die Warburggefäße wurden dann an die Manometer angeschlossen, wobei die besondere Aufmerksamkeit auf das Abdichten der Manometerhähne gerichtet war. Daraufhin wurden sie in ein Wasserbad von  $37^\circ\text{C}$  gehängt. Ab Markierung 25 des Kurzzeitmessers wurden die Reaktionssubstanzen 20 Minuten lang mit einem  $\text{CO}_2$ - $\text{N}_2$ -Gemisch unter Rütteln begast (Abb. S. 12). Fünf Minuten vor Ablauf der Inkubationszeit wurde die Schüttelautomatik abgestellt und jetzt auftretende Manometerdifferenzen notiert. Der pH-Wert lag während der Inkubationszeit bei etwa 7,7 (Süllmann, 1964)

c) Messung der Paraoxonase-Aktivität über die Cholinesterase-Restaktivität

Nach genau 1 Stunde Inkubationszeit wurde der Inhalt der Anhangsbirne in den Reaktionsraum der Warburggefäße gekippt. Der pH-Wert lag nun bei 7,2 (Süllmann, 1964).

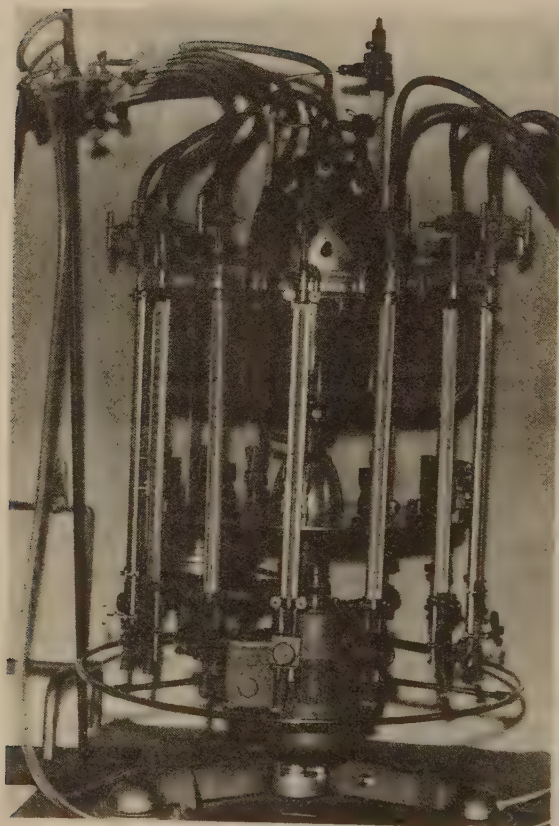


Abb.: Warburg-Apparat der Firma Braun, Melsungen,  
Typ V 85, für die manometrische Methode von  
Ammon (1934), in der Modifikation von Friedberg  
und Sakai (1958).

Die Gefäße wurden 3 Minuten unverschlossen gerüttelt, wobei die Schüttelfrequenz 100/min. betrug. Danach verschloß man die Warburggefäße und die Manometer und notierte den nach 15 Minuten und 30 Minuten abgelesenen Manometerstand. Während dieser 30 Minuten blieb die Schüttelautomatik mit Ausnahme des kurzen Ablesevorgangs eingeschaltet.

Die Aktivität der Seren wurde in Doppelbestimmungen ermittelt, d.h. es liefen in einem Versuchsablauf zwei vergiftete und zwei unvergiftete Ansätze mit. Zur Kontrolle der Eigenhydrolyse dienten zwei Leerwerte, bei welchen die Anhangsbirne des Gefäßes 0,5 ml Verdünnungslösung, der Reaktionsraum 1,5 ml Butyrylcholinjodid-Lösung enthielt.

In einem einzigen Versuchsablauf konnten somit außer den beiden Leerwerten drei verschiedene Seren (davon jeweils zwei Proben vergiftet und zwei unvergiftet ) geprüft werden.

Darüber hinaus wurde jedes Serum in der eben beschriebenen Weise in zwei verschiedenen Versuchsabläufen untersucht, so daß von jedem Serum insgesamt demnach vier Werte ohne Vergiftung und vier Werte nach Vergiftung vorlagen, wodurch eine Fehlbeurteilung der Gruppenzugehörigkeit eigentlich ausgeschlossen werden kann.

#### d) Berechnung der Restaktivität

Von den abgelesenen Manometerwerten wurden die vorher notierten Manometerdifferenzen abgezogen, die sich so ergebende Zahl mit den jeweiligen Manometerkonstanten multipliziert. Die Leerwerte errechneten sich ebenso.

Die zu jedem Manometer gehörende Konstante ergibt sich aus folgender Formel (nach Süllmann)

$$K = \frac{V_G \cdot \frac{273}{T} + V_F \cdot a}{P_O}$$

wobei:  $V_G$  = Volumen des Gasraumes  
 $T$  = Versuchstemperatur  
 $V_F$  = Flüssigkeitsvolumen  
 $P_O$  = Normaldruck  
 $a$  = Absorptionskoeffizient

Aus den Wertepaaren nach Vergiftung und ohne Vergiftung wurde jeweils das arithmetische Mittel gebildet und der Leerwert von diesen beiden Mittelwerten der Fermentmessung subtrahiert. Die Aktivität wird in  $\mu\text{l}/\text{CO}_2/30 \text{ Min. u. } 0,15 \text{ ml Serum}$  angegeben. Das Verhältnis des Wertes nach Vergiftung zum Wert ohne Vergiftung stellte die Restaktivität in Prozent der Normalaktivität dar.

## 2. Versuchsergebnisse

Es wurden 34 Seren von 10 gesunden, miteinander nicht verwandten Familien (jeweils mit Vater, Mutter und Kind(ern)) untersucht, wobei die Gruppenzugehörigkeit in Bezug auf niedrige, mittlere oder hohe Cholinesterase-Restaktivität vor den Untersuchungen nicht bekannt war.

Die nebenbei laufenden Blutgruppenuntersuchungen nach dem ABO-System erbrachten bei den Kindern keine unmögliche Blutgruppenkonstellation, die im Hinblick auf die genetische Verwertbarkeit der Seren hätte Bedenken aufkommen lassen können. Die erhaltenen Ergebnisse sind in Tab. 3 zusammengestellt.

T A B E L L E 3

Serum-Cholinesterase-Restaktivität in Prozent der Normalaktivität

| F A M I L I E     | 1. Bestimmung |        | 2. Bestimmung |        | Mittelwert<br>(% Restaktivität) |
|-------------------|---------------|--------|---------------|--------|---------------------------------|
|                   | Datum 72      | Wert   | Datum 72      | Wert   |                                 |
| (1) VATER M.      | 7. März       | 1,14%  | 24. März      | 1,87%  | 1,51%<br>(nieder)               |
| MUTTER L.M.       | 23. März      | 2,70%  | 23. März      | 3,32%  | 3,01%<br>(nieder)               |
| KIND P.M.         | 7. März       | 3,00%  | 24. März      | 3,90%  | 3,45%<br>(nieder)               |
| (2) VATER W.D.    | 17. März      | 17,30% | 17. März      | 14,50% | 15,90%<br>(mittel)              |
| MUTTER Ch.D.      | 17. März      | 1,80%  | 17. März      | 0,51%  | 1,15%<br>(nieder)               |
| 1. KIND E.D.      | 17. März      | 2,50%  | 17. März      | 0,81%  | 1,66%<br>(nieder)               |
| 2. KIND R.D.      | 11. Mai       | 16,70% | 11. Mai       | 18,11% | 17,40%<br>(mittel)              |
| (3) VATER W.S.    | 21. März      | 4,38%  | 22. März      | 4,10%  | 4,24%<br>(nieder)               |
| MUTTER E.S.       | 21. März      | 1,70%  | 22. März      | 1,93%  | 1,82%<br>(nieder)               |
| KIND P.S.         | 22. März      | 4,13%  | 22. März      | 4,70%  | 4,42%<br>(nieder)               |
| (4) VATER J.SCH.  | 22. März      | 1,00%  | 22. März      | 2,43%  | 1,72%<br>(nieder)               |
| MUTTER E.SCH.     | 28. April     | 1,51%  | 28. April     | 3,57%  | 2,54%<br>(nieder)               |
| KIND J.SCH.       | 5. April      | 2,96%  | 5. April      | 2,99%  | 2,98%<br>(nieder)               |
| (5) VATER F.SCHL. | 4. April      | 1,05%  | 4. April      | 3,56%  | 2,30%<br>(nieder)               |
| MUTTER M.SCHL.    | 4. April      | 20,13% | 4. April      | 20,30% | 20,22%<br>(mittel)              |
| 1. KIND B.SCHL.   | 9. März       | 1,50%  | 10. März      | 0,67%  | 1,09%<br>(nieder)               |
| 2. KIND J.SCHL.   | 4. April      | 19,18% | 4. April      | 20,78% | 19,98%<br>(mittel)              |

T A B E L L E 3

Fortsetzung

Serum-Cholinesterase-Restaktivität in Prozent der Normalaktivität

| F A M I L I E     | 1. Bestimmung |        | 2. Bestimmung |        | Mittelwert         |
|-------------------|---------------|--------|---------------|--------|--------------------|
|                   | Datum 72      | Wert   | Datum 72      | Wert   |                    |
| (6) VATER H.R.    | 3. Mai        | 17,17% | 4. Mai        | 18,48% | 17,81%<br>(mittel) |
| MUTTER R.         | 25. April     | 14,40% | 25. April     | 19,50% | 16,95%<br>(mittel) |
| 1. KIND W.R.      | 4. Mai        | 2,99%  | 3. Mai        | 2,96%  | 2,98%<br>(nieder)  |
| 2. KIND H.R.      | 3. Mai        | 14,19% | 4. Mai        | 18,60% | 16,39%<br>(mittel) |
| (7) VATER J.Schm. | 26. April     | 4,45%  | 26. April     | 4,83%  | 4,64%<br>(nieder)  |
| MUTTER CH.Schm.   | 15. März      | 4,61%  | 16. März      | 4,20%  | 4,40%<br>(nieder)  |
| KIND R.Schm.      | 9. März       | 2,89%  | 10. März      | 3,43%  | 3,16%<br>(nieder)  |
| (8) VATER H.M.    | 28. April     | 41,50% | 28. April     | 40,70% | 41,10%<br>(hoch)   |
| MUTTER A.M.       | 26. April     | 15,50% | 26. April     | 18,49% | 17,00%<br>(mittel) |
| 1. KIND J.M.      | 28. April     | 40,59% | 28. April     | 42,56% | 41,57%<br>(hoch)   |
| 2. KIND E.M.      | 11. Mai       | 15,70% | 11. Mai       | 16,82% | 16,30%<br>(mittel) |
| (9) VATER W.W.    | 9. Mai        | 4,66%  | 9. Mai        | 2,62%  | 3,63%<br>(nieder)  |
| MUTTER E.W.       | 9. Mai        | 2,43%  | 9. Mai        | 2,47%  | 2,45%<br>(nieder)  |
| KIND K-H.W.       | 9. Mai        | 1,78%  | 9. Mai        | 1,78%  | 1,78%<br>(nieder)  |
| (10) VATER SCH.   | 2. Mai        | 1,12%  | 2. Mai        | 2,19%  | 1,66%<br>(nieder)  |
| MUTTER SCH.       | 2. Mai        | 15,0%  | 2. Mai        | 19,25% | 17,12%<br>(mittel) |
| KIND M.SCHA.      | 2. Mai        | 3,85%  | 2. Mai        | 4,05%  | 3,95%<br>(nieder)  |

Zunächst bestätigte sich die von Geldmacher-v. Mallinckrodt und Lindorf (1969) beschriebene Einteilung der Restaktivitäten in drei Gruppen: Die erste Gruppe mit niederer Restaktivität reicht von 1,09% bis 4,64% Restaktivität, die mittlere Gruppe von 15,90% bis 20,22% und die hohe Gruppe von 40,59% bis 42,56%. Die schmale Schwankungsbreite der letzten Gruppe resultiert aus der kleinen Zahl hoher Typen.

Die Gruppenteilung läßt sich hieraus deutlich erkennen.

Berechnet man den prozentualen Anteil der einzelnen Gruppen, wobei nur die Werte von Vätern und Müttern und nicht die der Kinder herangezogen wurden, so ergibt sich folgendes Bild:

|                  |      |
|------------------|------|
| Niedere Gruppe:  | 65 % |
| Mittlere Gruppe: | 30 % |
| Hohe Gruppe:     | 5 %  |

wobei gerade bei den zwei letzten Prozentzahlen durch die kleine Anzahl der Seren die Schwankungsbreite noch relativ hoch anzusetzen ist.

Betrachtet man nun die Versuchsergebnisse im Hinblick auf die Genetik, das heißt auf die Fragen, zu welcher Typgruppe bei gegebener Restaktivität der Eltern deren Kinder gehören, dann findet sich folgendes Resultat, wie es aus Tabelle Nr. 3 und 4 hervorgeht.

Die Versuchsergebnisse der kindlichen Seren zeigen bei den hier geprüften Familien einen intermediären Erbgang auf.

Bei den Familien 1, 2, 5, 6 und 7 sind sowohl Vater als auch Mutter der Paraoxonase 1-1, das heißt der niederen Gruppe zugehörig:

TABELLE 4

VERTEILUNG der Paraoxonasen-Typen bei 10 Familien mit 34 Personen

| NR. | NAME       | VATER | MUTTER | KINDER |       |
|-----|------------|-------|--------|--------|-------|
|     |            |       |        | 1      | 2     |
| 1   | Fam. Mü.   | 1 - 1 | 1 - 1  | 1 - 1  |       |
| 2   | Fam. Sch.  | 1 - 1 | 1 - 1  | 1 - 1  |       |
| 3   | Fam. Scha. | 1 - 1 | 2 - 1  | 1 - 1  |       |
| 4   | Fam. Schl. | 1 - 1 | 2 - 1  | 1 - 1  | 2 - 1 |
| 5   | Fam. Schm. | 1 - 1 | 1 - 1  | 1 - 1  |       |
| 6   | Fam. Sp.   | 1 - 1 | 1 - 1  | 1 - 1  |       |
| 7   | Fam. We.   | 1 - 1 | 1 - 1  | 1 - 1  |       |
| 8   | Fam. Dtl.  | 2 - 1 | 1 - 1  | 1 - 1  | 2 - 1 |
| 9   | Fam. Ru.   | 2 - 1 | 2 - 1  | 1 - 1  | 2 - 1 |
| 10  | Fam. M.    | 2 - 2 | 2 - 1  | 2 - 2  | 2 - 1 |

alle Kinder wiesen die gleiche Gruppenzugehörigkeit, nämlich 1-1, auf.

Die Familien 3, 4 und 8 sind von Vater und Mutter her gemischt: ein Partner besitzt die Gruppe 1-1, der andere die mittlere Gruppe, also 2-1:

Die Kinder können sowohl der niederen als auch der mittleren Gruppierung zugehörig sein.

Besonders deutlich zeigt Familie 9 das Wesen des intermediären Erbganges:

Vater und Mutter gehören beide zur Gruppe 2-1; beide Kinder gehören verschiedenen Gruppen an, einmal der niederen Gruppe 1-1, einmal der mittleren Gruppe 2-1. Theoretisch wäre auch das Vorkommen eines hohen Typs (2-2) möglich.

Als einzige Familie mit Zugehörigkeit zur Gruppe 2-2 erweist sich Familie 10, wo der Vater einen hohen Typ darstellt, die Mutter mit einer Restaktivität von 17% eindeutig zur mittleren Gruppe zu zählen ist:

In diesem Falle besitzt ein Kind die Gruppe 2-2 des Vaters, das andere die Konstellation 2-1 der Mutter.

Tabelle Nr. 4 zeigt die in den Versuchen vorgefundene Paraoxonase von Eltern und Kindern, wobei jeweils die Gruppeneinteilung 1-1, 2-1, 2.2 (nach Geldmacher- v. Mallinckrodt und Lindorf 1969) der älteren bisherigen Typbezeichnung "niedrig", "mittel" und "hoch" entspricht.

Innerhalb der selben Paraoxonase-Gruppe konnte im Hinblick auf die absolute Prozentzahl der Restaktivität keine Übereinstimmung oder eine Beziehung gefunden werden.

### 3. Zusammenfassung

Für die Untersuchung standen insgesamt 34 menschliche Seren (18 weibliche und 16 männliche) von 10 gesunden Familien zur Verfügung.

Ausgehend von den Unterschieden, die einerseits Krisch (1968) für Paraoxonase und andererseits Geldmacher- v. Mallinckrodt, Rabast und Lindorf (1969) in der Restaktivität der Serum-Cholinesterasen nach Vergiftung mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat) gefunden hatten und die nach Geldmacher- v. Mallinckrodt und Baumgärtner auf unterschiedlichen Paraoxonase-Aktivitäten beruhen, sollte die Frage nach der genetischen Steuerung geklärt werden.

Bei den Untersuchungen an Familien, die Geldmacher- v. Mallinckrodt und Lindorf 1969 durchführten, mußten noch Überlegungen mit einbezogen werden, die für einen dominanten Erbgang sprachen.

Die von mir gefundenen Werte und Ergebnisse bezüglich der vererbten Paraoxonase-Aktivität untermauern die These eines intermediären Erbganges, wobei die Paarungen mit alleinigem Typ 1-1 und gleichfalls niedrigem Typ des Kindes einem intermediären genetischen Gang nicht entgegenstehen, sondern eine Möglichkeit in dieser Steuerung darstellen. Es ergaben sich bei den Versuchen auf seiten der Eltern insgesamt vier der sechs möglichen Typen-Kombinationen, nämlich:

- |                    |             |
|--------------------|-------------|
| 1) Niedrig-Niedrig | 1-1 und 1-1 |
| 2) Niedrig-Mittel  | 1-1 und 2-1 |
| 3) Mittel-Mittel   | 2-1 und 2-1 |
| 4) Hoch-Mittel     | 2-2 und 2-1 |

Dementsprechend ergaben sich bei den Kindern folgende Restaktivitäts-Gruppen:

Die Kinder aus der 1. Paarungsmöglichkeit gehören der Gruppe 1-1 an.

Nachkommen der unter 2. angeführten Kombination besitzen entweder eine niedere oder eine mittlere Restaktivität (1-1 oder 2-1).

Bei einer Ausgangssituation "2-1 und 2-1" sind bei meinen Untersuchungen einmal ein "1-1 Typ" und einmal ein "2-1 Typ" hervorgegangen, als dritte Möglichkeit könnte in diesem Fall eine hohe Restaktivität, also 2-2 resultieren.

Sind die Elternteile "2-1 Typ" und "2-2 Typ", so können die Kinder ebenfalls beiden Gruppen angehören.

Tabelle Nr. 5 veranschaulicht die einzelnen Kombinationsmöglichkeiten auf Seiten der Eltern und zeigt die daraus sich ergebenden Paraoxonase-Aktivitätsgruppen der Kinder, wobei auch auf die zwei in diesem Untersuchungsmaterial nicht vorgekommenen Möglichkeiten (1-1 mit 2-2, 2-2 mit 2-2) geschlossen wurde.

Bei der Messung der Paraoxonase-Aktivität hat sich mit Butyrylcholinjodid als Substrat eine gute Zuordnung zu den einzelnen Gruppen nach Restaktivität gezeigt.

T A B E L L E 5

|        |                          |                                   |                 |  |
|--------|--------------------------|-----------------------------------|-----------------|--|
| Eltern | 1 - 1                    |                                   |                 |  |
| 1 - 1  | Kinder<br>1 - 1          | 2 - 1                             |                 |  |
| 2 - 1  | Kinder<br>1 - 1<br>2 - 1 | Kinder<br>1 - 1<br>2 - 1<br>2 - 2 | 2 - 2           |  |
| 2 - 2  | Kinder<br>2 - 1          | Kinder<br>2 - 1<br>2 - 2          | Kinder<br>2 - 2 |  |

Aufstellung der möglichen Paraoxonase-Gruppen-  
zugehörigkeit der Kinder bei den verschiedenen  
elterlichen Kombinationen

Neben manchen anderen interessierenden und noch offenstehenden Fragen, wie zum Beispiel die Auswirkung von Krankheiten auf das ferment-spaltende System, wäre eine Untersuchung über den Zusammenhang der bisher bekannten Blutgruppen und der unterschiedlichen Aktivität der Paraoxonase sicherlich aufschlußreich.

E. Literaturverzeichnis

1. Aldrige, W.N.:  
Serum esterases. 1. Two types of esterase (A and B) hydrolysing p-nitrophenyl acetate, propionate and butyrate, and a method for their determination.  
Biochem. J. 53, 110 (1953 a)
2. Aldrige, W.N.:  
Serum esterases. 2. an enzyme, hydrolysing diethyl p-nitrophenyl phosphat (E 600) and its identity with the A-Esterase of mammalian sera.  
Biochem. J. 53, 110 (1953 b)
3. Ammon, R.:  
Die fermentative Spaltung des Acetylcholins.  
Pflügers Arch. ges. Physiol. 233, 486 (1934)
4. Augustinsson, K.B., and B. Heimbürger:  
Enzymatic hydrolysis of organophosphorus compounds. I-VI.  
Acta chem. scand. 8, 753, 762, 915, 1533 (1954);  
9, 310, 383 (1955)
5. Geldmacher- v. Mallinckrodt, Baumgartner, Pétenyi, Burgis, Lindorf und Metzner:  
Korrelation zwischen der unterschiedlichen Vergiftbarkeit der Serum-Cholinesterase durch E 600 und der Aktivität des E 600-spaltenden Enzym-Systems in menschlichen Seren.  
Hoppe-Seyler's Z. Physiol.Chem. 353, S.217 (1972)
6. Geldmacher- v. Mallinckrodt, M. und H.H. Lindorf:  
Unterschiedliche Reaktion menschlicher Serum-Cholinesterasen mit Alkylphosphaten.  
Vortrag auf der 48. Tagung der deutschen Gesellschaft für Rechtsmedizin in Berlin, 6. - 9.10.1969 (a)

7. Geldmacher- v. Mallinckrodt, H.H. Lindorf, M. Petenyi  
M. Flügel, T. Fischer und T. Hiller:  
Genetisch determinierter Polymorphismus der menschlichen Serum-Paraoxonase.  
Humangenetik 17, 331-335 (1973)  
by Springer-Verlag 1973
8. Geldmacher- v. Mallinckrodt, M, U. Rabast und  
H.H. Lindorf:  
Unterschiedliche Reaktionen menschlicher Serum-Cholinesterasen mit E 600 (O,O-Diäthyl-O-(p-nitrophenyl)-phosphat).  
Arch. Toxikol. 25, 223 (1969)
9. Goedde, Doenike und Altland:  
Pseudocholinesterasen (1967)  
Springer-Verlag Berlin-Heidelberg-New York.
10. Kimmerle, G. und D. Lorke:  
Die Toxikologie der insektiziden Phosphorsäureester  
Pflanzenschutznachrichten Bayer 21, 111 (1968)
11. Kuschinsky, G. und H. Lüllmann:  
Phosphorsäureester als Insektizide  
In: Kurzes Lehrbuch der Pharmakologie, hrsg. von  
G. Kuschinsky und H. Lüllmann 236, 237 und 238  
Georg Thieme Verlag, Stuttgart (1972)
12. Krisch, K.:  
Enzymatische Hydrolyse von Diäthyl-p-nitrophenylphosphat  
(E 600) durch menschliches Serum.  
Z. klin. Chem. klin. Biochem. 6, 41 (1968)
13. Main, A.R.:  
Kinetic evidence of multiple reversible cholinesterases  
based on inhibition by organophosphates  
J. biol. Chem. 244, 829 (1969)

14. Skrinjaric - Spoljar, M. und E. Reiner:  
Hydrolysis of diethyl-p-nitrophenyl-phosphate and ethyl-p-nitrophenyl-ethylphosphatate by human sera  
Biochem. Biophysl. Acta 165, 289 (1968)
15. Süllmann, E.:  
Manometrische Methoden zur Untersuchung des Gewebestoffwechsels.  
In: Handbuch der Physiologisch- und Pathologisch-Chemischen Analyse, hrsg. von K. Lang und E. Lehnartz, Bd. VI A, Teil A. Berlin-Göttingen-Heidelberg-New York Springer (1964)
16. Whittaker, M.:  
The pseudocholinesterase variants. Differentiation by means of alkyl alcohols.  
Acta genet. (Basel) 18, 325 (1968)
17. Whittaker, M.:  
Differential inhibition of human serum cholinesterase with butyl alcohol: recognition of new phenotypes.  
Acta genet. (Basel) 18, 335 (1968 a).

Herrn Prof. Dr. Dr. E. Weinig darf ich für Bereitstellung des Arbeitsplatzes in seinem Institut und für die Überlassung der Apparaturen herzlich danken.

Herrn Prof. Dr. H.-B. Wuermeling darf ich meinen herzlichen Dank aussprechen für die Übernahme des Korreferates.

Mein ganz besonderer Dank gilt Frau Professor Dr. Dr. Geldmacher- v. Mallinckrodt für die Überlassung des Themas, für ihre überaus große Hilfsbereitschaft bei jeglichen Problemen und ihre stets in großem Maße gewährten für mich sehr wertvollen Ratschläge.

Herrn Opitz danke ich für die Überlassung einer Abbildung des Warburg-Apparates.

## Lebenslauf

Am 14. November 1947 wurde ich, Rainer Johannes Rudolf Schmitt, als Sohn des Apothekers Dr. Johannes Schmitt und seiner Ehefrau Charlotte, geb. Gehauf, in Nürnberg geboren. Ich besuchte zunächst für ein Jahr die Volksschule Behringersdorf und wechselte dann in die Volksschule Nürnberg, Thusneldastraße. Im Jahre 1958 trat ich in das Willstätter Gymnasium in Nürnberg ein, wo ich im Jahre 1967 die Reifeprüfung erfolgreich ablegte. Im Anschluß daran studierte ich an der Universität Erlangen-Nürnberg zwei Semester Biologie, um dann 1968 an der Universität Frankfurt a.Main das Studium der Medizin zu beginnen. Im Herbst 1969 legte ich an der Universität Erlangen-Nürnberg das Vorphysikum, im Frühjahr 1971 die ärztliche Vorprüfung und im Juli 1974 das Staatsexamen ab. Seit 1. September 1974 bin ich als Medizinalassistent an den Städt. Krankenanstalten Nürnberg tätig.







*Copie - Center 2000*  
852 ERLANGEN • Obere Karlstr. 30